



TITLE:

第3篇 ^{1314}Th の急性毒性, 血中制菌力並びに動物に於ける治療実験について(Alpha-Ethyl-Thioisonicotinamide (^{1314}Th)の基礎的研究)

AUTHOR(S):

川合, 満

CITATION:

川合, 満. 第3篇 ^{1314}Th の急性毒性, 血中制菌力並びに動物に於ける治療実験について(Alpha-Ethyl-Thioisonicotinamide (^{1314}Th)の基礎的研究). 京都大学結核研究所紀要 1965, 13(2): 202-215

ISSUE DATE:

1965-03

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/51854>

RIGHT:

Alpha-Ethyl-Thioisonicotinamide (1314Th) の 基礎的研究

第 3 篇 1314Th の急性毒性、血中制菌力並びに動物に於ける 治療実験について

京都大学結核研究所内科学第 1 (主任教授 内藤 益一)

副 手 川 合 満

(昭和40年1月15日受付)

第 1 章 緒 言

著者は第 1 篇において 1314Th 単独の抗結核作用について検討した結果、(1) 10%牛血清加キルヒナー培地において 0.625~1.25 γ /ml の Minimum inhibitory concentration (MIC) を示し、培地 pH 接種菌量にあまり影響をうけない。(2) 1314Th の MIC は使用培地により著明に変化する。(3) 1314Th の制菌作用は “in vitro” で比較的安定である。(4) 1314Th 未使用株に自然耐性株があり 1314Th を患者に使用して尚、菌陰性とならない時には比較的早期に耐性の上昇が認められる。(5) 1314Th は TBI を除いて他の抗結核剤と交叉耐性を有しない。(6) 1314Th のいわゆる殺菌効果は薬剤作用時間の延長により著明に増加し、4 週間接触の場合の最低殺菌濃度は MIC に比較的近い値を示すこと、等を明らかにして、1314Th は中級の抗結核作用を有する薬剤であることを確認し、第 2 篇において、1314Th と他の抗結核剤との試験管内併用効果を MIC 比及び臨床投与量比で検討し、MIC 比では KM, PZA, VM に臨床投与量比では KM, TC, PZA, VM, に併用効果を認めたのである。

本篇では、1314Th の効果を “in vivo” で検討した。一般に化学療法剤が如何に試験管内ですぐれた制菌力を示しても実際に動物に投与して検討した場合、強い毒性(急性・慢性)や著しい副作用を示す場合があり、又動物によっては全く治療効果を認めない場合も少なくない。

かかる場合においては実際臨床的に治療効果が期待できないことは当然である。このために試験管内である程度の制菌力を示した薬剤は次にマウス等の実験動物を用いて急性及び慢性毒性試験を行ない、更に各種の治療実験により効果及び副作用の有無を検討し、最後に臨床的に試用してその治療効果を判定するという様な順序に検討されるのが常道である。

そこで著者は先ずマウスを用いて 1314Th の急性毒性 (LD₅₀) を検討し次に試験管内実験と動物実験との間の橋渡しの実験ともいうべき方法として薬剤を生体に投与し、その血液の制菌作用を検索し、次にマウスの生存日数を指標として 1314Th 単独及び 1314Th と他種抗結核剤との併用効果の検討を行ない、最後にモルモット前眼部結核症による 1314Th の治療効果を検討してみたわけである。尚モルモットを用いた実験で前眼部結核症の治療実験を実施したのはこの方法が (1)治療開始時に病変の程度を揃えて群別することが可能である。(2)動物に何等の著明な侵襲を加えることなく生態のままで治療効果をみることが出来る。(3)観察に必要な期間を病変の経過をみることにより任意に決定することができる。(4)治療終了後放置してその後の経過をみることが出来るし、必要あれば剖検、培養によって病理学的及び細菌学的検索も可能である。(5)実験動物が比較的少数ですむ。といった多くの利点をそなえているために著者はこの方法を採用したわけである。

第2章 実験材料

I. 1314Th の急性毒性の検討

1) 実験動物

均一系 dd 雌性マウスで生後約1～1.5カ月の体重15g 前後のものを使用した。購入後約1週間固型飼料を与え、体重の減少のないことを確認して後実験に供した。

2) 被検薬剤

1314Th は少量の Tween 80溶液 (0.5%) を加え乳鉢でよく磨砕した後、滅菌蒸溜水により懸濁液として使用した。尚対照薬剤として INH を用いた。

II. 1314Th の血中制菌力持続時間の検討

1) 結核菌浮游液

グリセリンブイヨン培地に移植後2～3週間経過した発育旺盛な時期にある人型結核菌 H37Rv 株の菌膜を白金耳にて釣取し、小川の硝子玉入り肉厚コルベンに入れ振盪磨砕し、次いで滅菌蒸溜水を漸次滴下しつつ振盪し、大体1mg/ml の濃度の菌液を作成し試験管に採取ししばらくの間放置して大きな菌塊を沈め静かにその上清をとり、この菌液を用いて滅菌蒸溜水により更に稀釈し、0.5mg/ml の菌液になるように調整し、之を実験に供した。

2) 使用培地

キルヒナー培地原液の蒸溜水の量のみを変えた3種の基本培地、即ち10倍濃厚、2倍濃厚及びキルヒナー培地原液を調整し、100°C30分間 Koch の蒸気滅菌釜で24時間毎に3回に亘って間歇的蒸気滅菌を行ない、更に37°C の孵卵器中で48時間にわたって雑菌試験を行なった後、雑菌の存在せぬことを確かめ後述する如き術式により血清を加えて90%, 50%, 10%血清加キルヒナー培地を作製し実験に供した。

10倍濃厚キルヒナー培地原液の組成は表1に示す如くである。これをそれぞれ5倍及び10倍に滅菌蒸溜水で稀釈して、2倍濃厚キルヒナー培地及びキルヒナー培地原液を作製し夫々実験に供した。

表1 10倍濃厚キルヒナー培地原液の組成

第2 磷酸ナトリウム	3.0g
第1 磷酸カリウム	4.0g
硫酸マグネシア	0.6g
拘攣酸ナトリウム	2.5g
アスパラギン	5.0g
グリセリン	20.0ml
蒸 溜 水	100.0ml
pH 6.2～6.4	

3) 被検体

実験1では体重2～3kg の健康赤目白毛家兎、実験2では健康人又は本研究所及び関係諸施設に入院中の患者を対象として検査した。

III. マウスの生存日数を指標とせる 1314Th 単独及び併用効果の検討

1) 実験動物

均一系 dd 雌性マウスを用い、あらかじめ生後4週体重12g 前後のマウスを実験室内で約3週間一定条件で飼育し、体重が20g 前後になるのを待って実験に供した。

2) 接種結核菌株

当教室に於いて継代培養し保存している人型結核菌黒野株を約3週間グリセリンブイヨン培地に培養し、その菌膜を釣取使用した。

IV. 海猿の前眼部結核症を指標とせる 1314Th の単独及び併用効果の検討

1) 実験動物

体重450g 前後の健康な成熟海猿で Römer 反応陰性のものを選び一定期間一定条件のもとで飼育した後実験に供した。

2) 接種結核菌株

教室保存の人型結核菌 H37Rv 株を10%血清加キルヒナー培地に移植し、約10日後の発育良好な菌膜を釣取使用した。

第3章 実験方法並びに実験成績

I. 1314Th の急性毒性の検討

1. 実験方法

1) 薬剤投与方法

1ml 用のツベルクリン注射器にマウス用ゾンデを装着し胃内に強制的に確実に所定量の薬液を注入した。

2) 観察方法

薬液投与後約6時間は、約30cm 立方硝子製観察箱に入れて投与後の状態を観察した。LD₅₀ の計算は24時間後の死亡数を用いた。

3) LD₅₀ の算出法

Litchfield & Wilcoxon 氏法²⁾を使用した。

2. 実験成績 (表2)

経口投与による1314Th の LD₅₀ は850mg/kg (766～944mg/kg) である。危険率 0.05。

尚、対照薬剤として同時に行なった INH の LD₅₀ は270mg/kg であった。

表 2 1314Th のマウス経口投与による急性毒性

投 量 (mg/kg)	死亡数 / 使用 動物数	死亡率(%) (観 察 値)	死亡率(%) (期 望 値)	観察値-期望値 (絶 対 値)	X ² の Contribution
700	0/6	0 (2.9)	9.0	6.1	0.047
800	2/6	33.3	33.3	0	0
900	4/6	66.6	66.6	0	0
1000	6/6	100(96.5)	89.0	7.5	0.055
K = 4 使用動物数の総和 = 24 N' = 12 自由度 n = 2					+) 0.102 直線の X ² = 0.102 × 6 = 0.612 X ² = 5.99 0.612 < 5.99 ∴ 有意の差を示さず
LD ₁₆ = 740 mg/kg LD ₅₀ = 850 mg/kg LD ₈₄ = 960 mg/kg S = 1.14 f _{LD50} = 1.11					
LD ₅₀ = 850(766~944) mg/kg S = 1.14(1.03~1.27) 危険率 P = 0.05					R = 1.43 A = 1.05 fs = 1.11

備考 K : 薬物投与の数

S : Slope function

N' : 期望値で16~24%を示すものの間に使用された動物数の総和

R : 最大投量と最小投量の比

A : SとRより求められる値

f_{LD50}, fs : LD₅₀, Sなどの factor

II. 1314Th の血中制菌力持続時間の検出

1. 実験方法

1) 薬剤投与方法

実験に際しては、早朝空腹時に一回薬剤投与を行ない、家兎では実験終了まで食飼を与えなかった。又家兎を対象とした実験では薬液を4~5号ネラトンカテーテルを用いて強制的に胃内に注入した。人体の場合には粉末又は錠剤を経口投与した。

2) 採血並びに血清分離方法

採血は薬剤投与前と投与後の所定時間経過後に、家兎においては耳静脈より、人体においては肘静脈より無菌的に約 5ml の血液をとり、

ガラスキャップ付遠沈管内に注入し、24時間静置後析出せる血清を 3000 r.p.m. にて20分間遠沈分離し、分離せる血清を実験に供した。

3) 実験術式

3列に並べた滅菌小試験管に先に分離した血清を採血時毎に夫々 0.1ml, 0.5ml, 0.9ml とし、その上に前述せる基本培地即ちキルヒナー原液 0.9ml, 2倍濃厚キルヒナー培地原液 0.5ml 10倍濃厚キルヒナー培地原液 0.1ml の順に加え、各試験管内の液量をいずれも 1ml とする。これに先にあらかじめ調製しておいた結核菌 H37Rv 株浮游液を各々 1滴ずつ滴下し、ガラスキャップを施し 37°C の孵卵器内に納め、

表 3 術 式

培地血清濃度	血 清 量	使 用 原 液 及 び 量	計	菌 浮 游 液
90%	0.9ml	10倍濃厚キルヒナー培地原液 0.1ml	1.0ml	1 滴
50	0.5	2 倍濃厚 " 0.5	1.0	"
10	0.1	キルヒナー培地原液 0.9	1.0	"

表4 判定規準 (肉眼的)

- (一) 菌発育を全く認めないもの
- (+) 管底にのみ菌発育を認めたもの
- (++) 液面迄菌膜の発育を認めたもの
- (+++) 液面から管壁にまで増殖進展したもの

2週, 3週, 及び4週間培養後の菌発状態を判定した。表3はその術式を表示したものである。

4) 成績判定

原則として最終判定は培養4週後に行なった。成績判定に際しては対照として薬剤投与前に採血した血清を加えた培地における菌の発育と比較しつつ, 各試験管内に於ける菌発育の状態を観察した。

判定規準は表4に示す如くである。

2. 実験成績

1) 実験 1

実験動物として家兎を用い, INH を対照薬剤

として 1314Th (末) の血中制菌力持続時間を検討した。投与量は INH 2mg/kg, 1314Th は 20mg/kg で, 夫々経口投与した。

その成績が図1であって, 1314Th は INH の10倍量を投与しても INH よりやや劣る効果を示すにとどまった。

2) 実験 2

人体を用いて 1314Th(末又は腸溶錠) 250mg を1回内服せしめ, その後の血中制菌力持続時間を検討した。

その成績が図2及び図3であって, 人体に於いても, 1314Th は軽度の血中制菌力を認めるが, この程度の薬剤投与量ではその効果は比較的弱いものであって, しかも粉末投与の方が内服後短かい時間で制菌力を示すことが認められた。しかし血清量が10%, 50%, 90%と増加しても制菌力持続時間に著明な差は認められなかった。

図1 1314Th 投与後の家兎血中制菌力持続時間

1314Th 20mg/kg 1回経口投与並びに INH 2mg/kg 1回経口投与

90%血清加キルヒナー培地

薬剤投与 後の時間	検査対象					
	1314Th			INH		
	a	b	c	d	e	f
前						
1				■	■	■
3	■					
5						
7						

50%血清加キルヒナー培地

薬剤投与 後の時間	検査対象					
	1314Th			INH		
	a	b	c	d	e	f
前						
1						
3						
5						
7						

10%血清加キルヒナー培地

薬剤投与 後の時間	検査対象					
	1314Th			INH		
	a	b	c	d	e	f
前						
1						
3						
5						
7						

註: 接種菌株 H37 Rv 0.01mg



■ : 完全発育阻止

||||| : 不完全発育阻止

□ : 発育阻止を認めない

図 2 人体に対する 1314Th の血中制菌力持続時間
1314Th 250mg 腸溶錠 1 回経口投与

90%血清加キルヒナー培地

薬 剤 投 与 後 の 時 間	検 査 対 象				
	A	B	C	D	E
前					
1					
3					
5					
7					

50%血清加キルヒナー培地

薬 剤 投 与 後 の 時 間	検 査 対 象				
	A	B	C	D	E
前					
1					
3					
5					
7					

10%血清加キルヒナー培地

薬 剤 投 与 後 の 時 間	検 査 対 象				
	A	B	C	D	E
前					
1					
3					
5					
7					

註：接種菌株 H37Rv 0.01mg

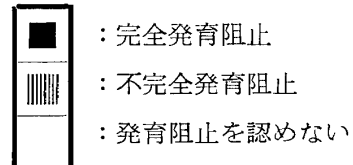


図 3 人体に対する 1314Th の血中制菌力持続時間の検討
1314Th 250mg 末 1 回経口投与

90%血清加キルヒナー培地

薬 剤 投 与 後 の 時 間	検 査 対 象				
	F	G	H	I	J
前					
1					
3					
5					
7					

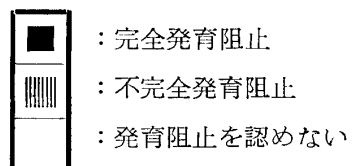
50%血清加キルヒナー培地

薬 剤 投 与 後 の 時 間	検 査 対 象				
	F	G	H	I	J
前					
1					
3					
5					
7					

10%血清加キルヒナー培地

薬 剤 投 与 後 の 時 間	検 査 対 象				
	F	G	H	I	J
前					
1					
3					
5					
7					

註：接種菌株 H37 Rv 0.01mg



Ⅲ. マウスの生存日数を指標とする 1314Th 単独及び併用効果の検討

1. 実験方法

1) 菌接種方法

前述せる人型結核菌黒野株を釣取し滅菌濾紙で水分を十分に除去した後、秤量してめのうの乳鉢で磨砕し、約倍量の乾燥人血漿を加え再びよく磨砕した後これに適当量の滅菌生理的食塩水を加え、1ml 中に 5mg の菌量が浮遊する様に調整し、之の 0.1ml を実験用マウスの尾静脈内に注入した。

2) 薬剤投与方法

薬剤はすべて体重に比例した投与量を 1 日 1 回又は 1 週 2 回ないし 3 回皮下注射又は経口投与によって投与した。経口投与、皮下注射に際

してマウス 1 匹当りの投与量は 0.2~0.4ml である。経口投与では 1ml ツベルクリン用注射器にマウス用ゾンデを装着して胃内に強制的に薬液を注入した。皮下注射は脊部皮下に行なった。尚薬液は水溶液とし、水溶性でないものはアラビヤゴムを用い懸濁液として投与した。

3) 治療効果の判定

効果の判定は生存率曲線と平均生存日数との総合判定により行なった。観察期間は全実験マウスの死亡までとし、薬剤投与は治療群のいずれかの 1 群の半数が死亡するまで行ない、それ以後はすべての群の治療を中止した。

2. 実験成績

1) 実験 1

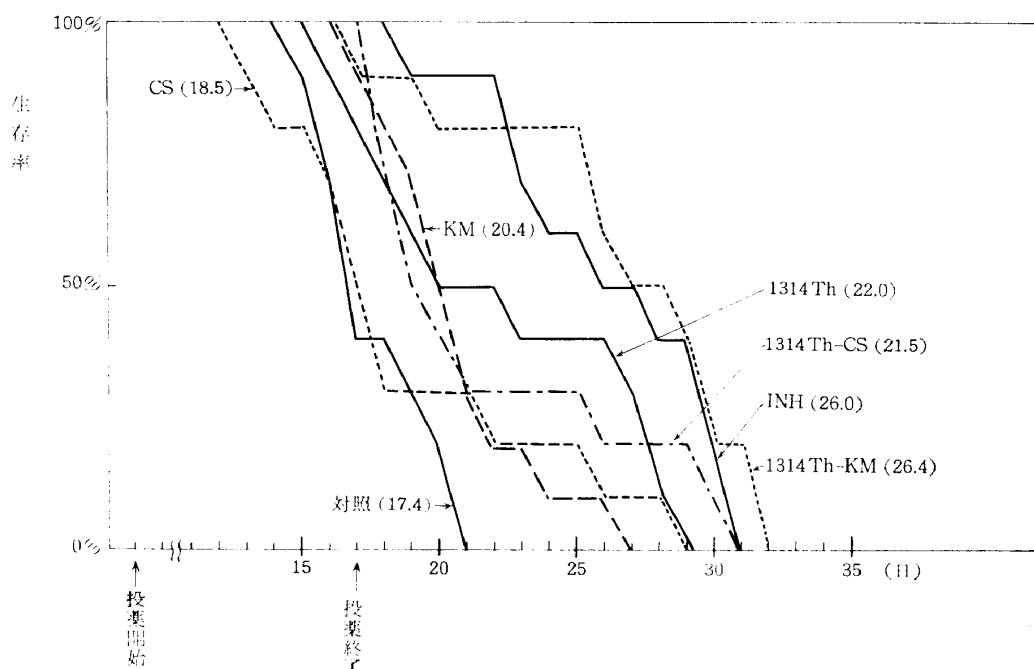
INH を対照薬剤として 1314Th, KM, CS, の

表 5 実験群の編成 (実験 1)

実験群	動物数	治療の種類及び投与量	平均生存日数
1	10	INH 1 γ/g 毎日経口投与	26.0 (日)
2	10	1314Th 10 γ/g 毎日経口投与	22.0
3	10	KM 20 γ/g 週 3 回皮下注射	20.4
4	10	CS 10 γ/g 毎日経口投与	18.5
5	10	1314Th 10 γ/g 毎日経口投与 + CS 10 γ/g 毎日経口投与	21.5
6	10	KM 20 γ/g 週 3 回皮下注射 + 1314Th 10 γ/g 毎日経口投与	26.4
7	10	対 照	17.4

図 4 結核マウスの生存日数による 1314Th の治療効果 (実験-1)

註：括弧内の数値は平均生存日数



単独の治療効果及び 1314Th-KM, 及び 1314Th-CS の2者併用療法の治療効果の比較をした実験であって, 1314Th が SM, PAS, INH, を大量に既に使用した患者に使用することを考えて行なったものである。

治療群の編成及び平均生存日数は表5にその生存率曲線は図4で示した。それによると1314Th 10 γ /g 単独投与でも KM 20 γ /g 週3回単独投与にまさる効果があり, 1314Th-KM 2者併用療法は INH 1 γ /g 単独投与とほぼ等しい治療効果を示した。又 CS 10 γ /g 単独投与は治療効果がとばしいが, 1314Th-CS 2者併用療法でも特に併用効果は認められなかった。

2) 実験 2

1314Th 10 γ /g 単独経口投与を対照として2次抗結核剤 VM, PZA, SI (sulfisoxazole), KM,

SOM (o-aminophenol methansulfonate¹¹⁾) を大抵臨床投与量比にして併用し, その延命効果を比較した実験であって, 実際臨床上 1314Th が SM, PAS, INH のいわゆる1次抗結核剤で治療目的を達しなかった症例に投与される場合が多いため, 1314Th の併用薬剤として良い併用効果を示すものを探究する目的で行なったものである。

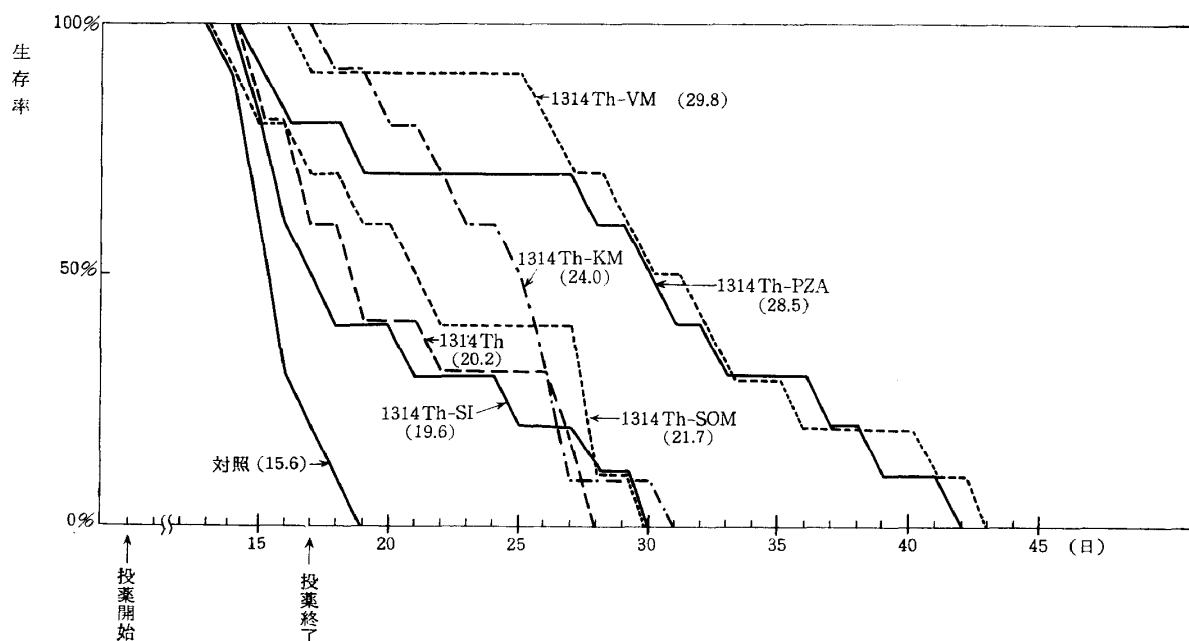
治療群の編成及び平均生存日数は表6で, その生存率曲線は図5に示した。それによると1314Th-VM の2者併用療法が一番すぐれ次は1314Th-PZA, 1314Th-KM の順に併用効果が認められたが, 1314Th-SOM 2者併用療法はほとんど併用効果が認められず, 1314Th-SI 2者併用療法は全く併用効果を示さなかった。

表 6 実験群の編成 (実験2)

実験群	動物数	治療の種類及び投与量	平均生存日数
1	10	1314Th 10 γ /g 毎日経口投与+VM 40 γ /g 週2回皮下注射	29.8 (日)
2	10	1314Th 10 γ /g 毎日経口投与+PZA 60 γ /g 毎日経口投与	28.5
3	10	1314Th 10 γ /g 毎日経口投与+SI 60 γ /g 毎日経口投与	19.6
4	10	1314Th 10 γ /g 毎日経口投与+KM 40 γ /g 週2回皮下注射	24.0
5	10	1314Th 10 γ /g 毎日経口投与+SOM 100 γ /g 毎日経口投与	21.7
6	10	1314Th 10 γ /g 毎日経口投与	20.2
7	10	対 照	15.6

図 5 結核マウスの生存日数による 1314Th の治療効果 (実験-2)

註: 括弧内の数値は平均生存日数



Ⅳ. 海猿の前眼部結核症を指標とせる 1314Th の単独及び併用効果の検討

1. 実験方法

1) 感作接種

前述せる H37Rv 株の菌膜を白金耳にて適量とり滅菌硝子玉入り小川氏肉厚丸底コルペンに入れ手振り法にて 1mg/ml の結核菌生理的食塩水浮游液を調製し、この 0.1ml 即ち約 0.1mg を実験海猿の大腿外側皮下に接種して、凡そ 3～4 週後 Römer 反応の陽転を確認した後以下に述べる要領により前房内結核菌接種を施行した。

2) 前房内結核菌接種

前述の感作接種により Römer 反応が陽転していることを確かめた実験海猿の右眼前房内に H37Rv 株の生理的食塩水浮游液 0.05ml (菌量凡そ 0.002mg) を接種した。これは右眼瞼を最大限に開瞼して 0.3% T-caine 液を点眼し、局

所麻酔を行なった後眼球固定用鑷子で眼球を固定し、あらかじめ菌浮游液を吸引しておいたツベルクリン用 1ml 注射器にてなるべく角膜輪部に近い部位で、眼軸に直角の方向に角膜を穿刺し、菌液を注入したのである。

3) 観察方法

前眼部に徐々に進展してくる結核病変の観察にあたっては、内藤式手持角膜細隙灯にて詳細に行なった。所見の記録に当っては、教室の神頭¹⁹⁾が考案改良を加えた表 7 の如き前眼部結核性病変指数によって各実験動物の病変程度を記録し、各実験群内の動物の病変指数値の相加平均値をその群のその時に於ける病変指数とし、毎週 1 回一定の日に観察記録をした。前眼部結核性病変を観察するにあたっては虹彩の充血、腫脹、紋理不整及び血管拡張の程度を主な基準にとり入れて行なっている。而して前房内に菌接種後病変が 3～3.5 度に達した時 (大体 1 週

表 7 前眼部結核性病変指数 (神頭)¹⁹⁾

病 変 指 数		1	2	3	4	5	6
病 的 所 見	毛 様 充 血	÷	+	++	+++	+++	
	浮 腫	—	—	÷	+	++	
角 膜	膨 隆	—	—	—	—	—	
	混 濁	—	÷	+	++	+++	
	血 管 新 生	—	÷	+	++	+++	
前 房	深 浅 度	正	種 々	種 々	種 々	不 明	眼 球 穿 孔 又 は 眼 球 癆
	混 濁	—	÷	+	++	+++	
	濃 性 物	—	÷	+	++	+++	
虹 彩	紋 理 不 整	+	++	+++	+++	不	
	充 血 ・ 腫 脹	+	++	+++	+++		
	血 管 拡 張	—	+	++	+++		
	結 節	—	軽 度 種 々	数え得る 種 々	無 数 種 々	明	
瞳 孔	形 状	ほぼ円	種 々	種 々	種 々	不	
	結 節	—	種 々	種 々	種 々		
	反 応	正	種 々	種 々	種 々	明	
備 考		極めて僅かの病変	軽度の病変	中等度の病変	高度の病変 (虹彩透見不能)	極めて高度の病変 (虹彩透見不能)	

註：—：所見なし

÷：極めて軽度の病変

÷：軽度の病変

++：中等度の病変

+++：高度の病変

+++：極めて高度の病変

表 8 実験群の編成

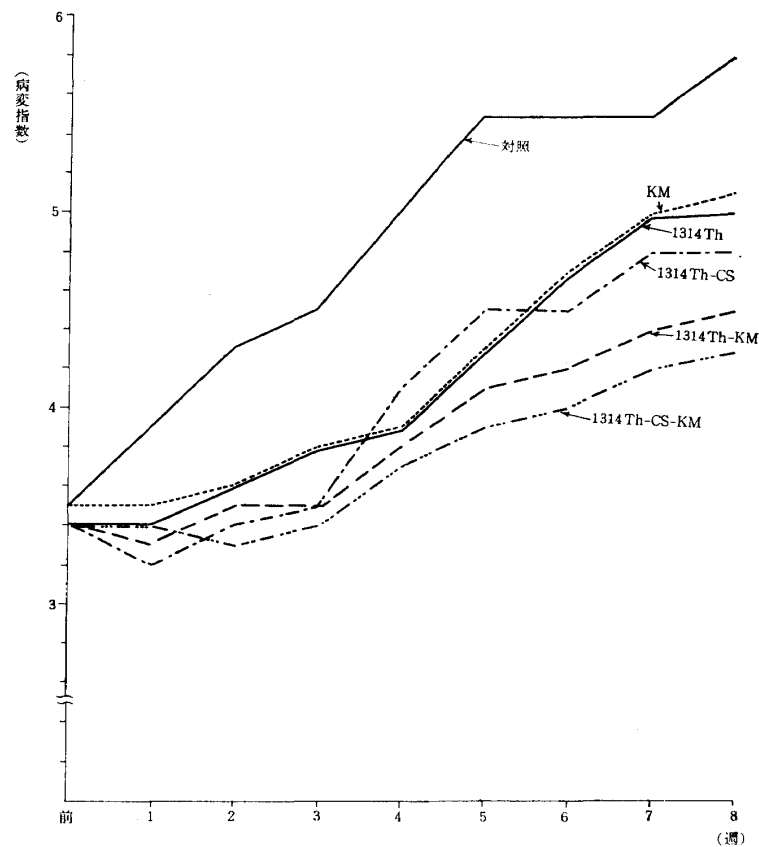
実験群	治療の種類及び投与量	動物数
1	KM 20 mg/kg 週3回皮下注射	6
2	1314Th 10 mg/kg 毎日経口投与	5
3	1314Th 10 mg/kg 毎日経口投与 + CS 10 mg/kg 毎日経口投与	5
4	1314Th 10 mg/kg 毎日経口投与 + KM 20 mg/kg 週3回皮下注射	5
5	1314Th 10 mg/kg) CS 10 mg/kg) 毎日経口投与 + KM 20 mg/kg 週3回皮下注射	5
6	対 照	6

表 9 前眼部結核病変指数の経過 (各群平均)

実験群	治療の種類	治 療 期 間								
		治療前	治療後 1週間	2	3	4	5	6	7	8
1	KM	3.5	3.5	3.6	3.8	3.9	4.3	4.7	5.0	5.1*
2	1314Th	3.4	3.4	3.6	3.8	3.9	4.3	4.7	5.0	5.0
3	1314Th-CS	3.4	3.2	3.4	3.5	4.1	4.5	4.5	4.8	4.8
4	1314Th-KM	3.4	3.3	3.5	3.5	3.8	4.1	4.2	4.4	4.5
5	1314Th-CS-KM	3.4	3.4	3.3	3.4	3.7	3.9	4.0	4.2	4.3
6	対 照	3.5	3.9	4.3	4.5	5.0	5.5	5.5	5.5	5.8

* 数値は病変指数の平均値を示す

図 6 前眼部結核性病変指数経過 (各群平均)



間後) 各実験群の指数の平均値がほぼ等しくなる様に編成し治療実験を開始した。観察期間は8週で動物数は各群5～6匹である。

4) 各臓器の肉眼的結核性病変並びに臓器内結核菌の定量培養
治療を行なった後、実験動物を約1週間無処

置のまま放置し、その後一度に屠殺剖検して内臓諸器管の肉眼的結核性病変を観察記録するとともに、眼球、脾、肝の一組織片(約0.5g)を滅菌乳鉢内で磨碎し4%苛性ソーダ液を加えて十分に混和し、一定時間静置して雑菌処理を行なうとともに各臓器の10倍稀釈液(稀釈には同

表 10 体 重 経 過 (各群平均)

実験群	治 療 の 種 類	治 療 期 間								
		治療前	治療後 1週間	2	3	4	5	6	7	8
1	KM	452	392	382	395	370	373	367	412	388g
2	1314Th	450	412	408	438	402	410	386	422	436
3	1314Th-CS	480	432	416	430	410	426	390	416	432
4	1314Th-KM	470	430	420	418	410	400	390	410	422
5	1314Th-CS-KM	452	422	406	414	400	400	408	436	414
6	対 照	472	440	422	433	418	413	415	433	447

表 11 各 臓 器 の 肉 眼 的 結 核 性 病 変

実 験 群 (各3匹宛)	治 療 の 種 類	肺		肝		脾		リ ン パ 腺			
		重 量 (g)	病変	重 量 (g)	病変	重 量 (g)	病変	右腋窩	右鼠蹊	左腋窩	左鼠蹊
1	KM	2.8	±	12.5	±	1.0	±	—	—	—	—
		8.0	+	16.0	++	1.3	+	—	++	—	—
		3.8	±	10.0	+	1.2	+	—	±	—	—
2	1314Th	4.0	±	13.0	—	1.0	±	—	++	—	—
		4.0	±	20.0	++	1.5	+	—	+	—	—
		4.8	±	19.5	—	1.0	±	—	+	—	—
3	134Th-CS	3.5	±	19.0	+	0.7	+	—	++	—	—
		4.0	±	19.3	+	0.9	±	—	++	—	—
		4.5	±	19.5	±	1.1	±	—	—	—	—
4	1314Th-KM	3.4	±	15.5	±	1.0	±	—	±	—	—
		3.8	±	17.2	±	0.8	+	—	—	—	—
		4.5	±	16.0	±	1.1	±	—	—	—	—
5	1314Th-CS-KM	4.2	±	10.0	—	0.7	—	—	—	—	—
		5.0	±	21.8	±	1.9	+	—	++	—	—
		4.0	±	16.0	±	1.0	—	—	—	—	—
6	対 照	5.2	++	20.0	++	1.5	++	—	++	—	—
		4.0	+	17.0	++	1.5	++	—	++	—	—
		10.0	++	20.0	++	1.8	++	—	+	—	—

註：—：肉眼的に病変のないもの

±：結核性病変と思われるが明瞭でないもの

＋：軽度ながら病変の明瞭に認められるもの

++：かなり広範囲に病変のあるもの

+++：臓器のほとんど全部に病変のあるもの

表 12 各臓器内結核定量培養成績

実験液 (各3匹宛)	治療の種類	眼 球		肝		脾	
1	KM	卅 卅 卅	卅 卅 卅	10 1 1	— 2 20	— 50 1	— 16 * 6
2	1314Th	卅 卅 卅	卅 卅 卅	2 — —	6 9 3	— 1 5	— 15 —
3	1314Th-CS	卅 15 卅	卅 13 卅	— 15 3	30 29 5	20 — —	20 — —
4	1314Th-KM	卅 卅 3	卅 卅 10	— 2 —	— 5 —	7 1 —	6 8 5
5	1314Th-CS-KM	— 3 40	— 30 20	— 3 —	— — —	— 20 —	— 20 2
6	対 照	卅 卅 卅	卅 卅 卅	— 8 9	— 12 4	3 8 3	1 — 3

註：—：菌発育を認めず

＋：培地 1/4 以内に菌発育を認めるもの

卅：培地 1/4 以上 1/2 以内に菌発育を認めるもの

卅：培地 1/2 以上に菌発育を認めるもの

*：数値は集落数を示す

様に4%苛性ソーダ液を使用す)を作製し、この0.1mlを3%小川培地斜面に流し、37°Cの孵卵器内で8週間培養し、結核菌集落発生を観察した。尚判定は4週及び8週の2回行なっている。

2. 実験成績

表8に示した如く1314Th 10mg/kg 毎日経口投与を含む6群を編成した。各群別の病変指数値を示したものが表9及び図6である。この実験は1314Thを中心としてCSまたはKMを併用したときの併用効果及び1314Th-KM-CS 3者併用療法を行なった際の併用効果の有無を検討した実験であってKM単独、1314Th単独及び1314Th-CSの2者併用療法の間には治療効果に著明な差を認めなかったが、1314Th-KMの2者併用療法はやや良く、1314Th-KM-CSの

3者併用療法はこれらの実験群の中で一番よい成績を示した。体重の経過は表10に示したが各群共に同様の傾向がみられた。表11及び表12は剖検時の肉眼的結核性病変及び各臓器内結核菌の定量培養成績である。各臓器の肉眼的結核性病変は無処置群を除いて各治療群の間に大差がなかったが、臓器内結核菌定量培養の成績では1314Th-KM-CSの3者併用療法が前眼部結核症に於ける場合と同様に、一番良い成績を示した。

第4章 総括並びに考按

1314ThのLD₅₀はRist²⁾ら、戸田³⁾らによると大体1000mg/kgであって急性毒性はINHの約1/5であるという。著者はdd系マウスを用いLitchfield and Wilcoxon氏法⁴⁾によって

LD₅₀ を計算し 850mg/kg という値を得た。

さて、化学療法剤の性能を検索する一つの手段として薬剤投与時の血中制菌作用の検討がある。著者は教室の志保田⁴⁾により開発された高濃度血清培地を用いて 1314Th の血中制菌力持続時間を検討した。即ちこの方法は薬剤を投与した生体より経時的に採血した血液より分離した血清を高濃度に含む培地を用いる方法であって試験管内実験と動物実験との間をいく実験といえるのである。

まず 1314Th の血中濃度についての文献をみると Rist⁵⁾ は、1314Th 1.0g 投与の場合 3, 6 時間で夫々 20, 10 γ /ml であり、0.5g 投与では 3, 6, 9 時間に夫々 12, 6, 3 γ /ml あったとべ、北本⁶⁾ は小川直立拡散法を用い 1314Th 250mg 投与ではほとんど阻止力は認めなかったが、500mg 投与のとき 5~8 γ /ml であったと報告し、三輪^{7,8)}、小森⁹⁾らは 2%寒天加キルヒナー培地を用いた直立拡散法で測定し三輪^{7,8)}は 500mg 投与の場合 2, 4, 6 時間に平均 2.5, 3.6, 2.5 γ /ml を示したとのべ小森⁹⁾は 500mg 錠剤投与の場合、2, 4, 6 時間に夫々平均 3.4, 3.8, 3.5 γ /ml を示し、4~6 時間にピークを示したとのべている。

著者の実験は前記の諸家と実験方法が異なっているので直接比較することはできないが、家兎を用いた実験では INH 2mg/kg (経口) と 1314Th 20mg/kg (経口) との血中制菌力を比較してみると 1314Th は INH の10倍量投与してみても INH よりやや劣る成績であった。又人体を用いた実験では、体重 50kg の人体に 250mg 1 回投与の方法では比較的弱い制菌力しか認められないが粉末と錠剤との比較では粉末の方が内服後短時間で制菌作用を示すことが認められた。

次にマウスの生存日数を指標として 1314Th の治療効果を検討した。この実験方法については教室の浜田¹⁰⁾が基礎的研究を行ない有毒人型結核菌黒野株が H37Rv 株に比べてマウスに対して殆んど常に一定のすぐれた毒力を発揮し抗結核剤の Screening Test や治療実験に用いる菌株としてすぐれていることを報告している。

事実この方法を用いて実施された実験も少ない。

さて文献でマウスに対する 1314Th の治療効果をみると Rist²⁾ らは人型結核菌 H37Rv 株 0.05mg を静脈内接種されたマウス実験的結核症に対する完全防止効果は毎日量 12mg/kg (感染の翌日より25日間の経口投与)により達せられ、この 1314Th の投与量は同一の実験条件における INH の10倍量であるという。堂野前¹²⁾らは人型結核菌黒野株を 0.5mg (湿菌量) 静脈内感染せしめ、感染の翌日より15日目まで治療した場合の 1314Th 10 γ /g 投与は皮下注射、経口投与共に INH 1 γ /g の皮下注射、経口投与にほぼ匹敵する効果を認めている。即ち 1314Th は INH のほぼ10倍量用いて同程度の治療効果を期待できると報告している。石田¹³⁾らは人型結核菌黒野株を感染させた生後 2~3 週の dd 系雄マウスを用い、1314Th をマウス当り 1mg 及び 5mg 経口投与及び皮下注射で投与し、対照薬剤としての INH は 0.1mg 皮下注射で投与する実験で生残率を検討し、1314Th は INH の10倍量では INH よりやや劣るが、INH の50倍量では INH に匹敵またはそれ以上の優れた効果があることを認めている。又一般に 1314Th 経口投与群は皮下治療群より治療効果がややすぐれていることもあわせて報告している。併用療法では KM 1mg(皮下)+1314Th 1mg(経口) 及び Sinomin 5mg(経口)+1314Th 1mg(経口) の実験をあわせて行なっているが特に併用効果をもとめていないようである。

著者の実験をまとめると 1314Th 10 γ /g 経口投与でも KM 20 γ /g 週 3 回皮注単独投与にややまさる効果があり、KM 20 γ /g(皮注)+1314Th 10 γ /g(経口) 2 者併用療法は INH 1 γ /g (経口) にほぼ等しい効果を示した。又 1314Th と VM, PZA, SI (sulfisoxazole) KM, SOM (o-aminophenol methansulfonate), CS 等との併用実験では、VM 40 γ /g(週-2 皮注)+1314Th 10 γ /g(経口), PZA 60 γ /g(経口)+1314Th 10 γ /g(経口), KM 40 γ /g(週-2 皮注)+1314Th 10 γ /g(経口) はやや併用効果が認められたが、1314Th-SOM, 1314Th-CS, 1314Th-SI はほとんど併用

効果を認めなかった。マウスの実験では 1314Th は INH の10倍量ではやや INH に劣る効果を示す薬剤であるといえよう。

次にモルモットの実験的結核症に対する 1314Th の効果についてであるが、著者が実験した方法は既に1946年 Steenken, Wolinsky 及び Heise¹⁴⁾ が感染海狸の前眼房内に結核菌を接種して生ずる前眼部結核症に対して Promin を投与し、その経過に及ぼす影響を研究しその方法のすぐれていることを発表している。その後、当教室において、前川¹⁵⁾が SM, PAS を用いて夫々の単独よりも併用療法の方がすぐれていることを報告して以来、日根野¹⁶⁾、河崎¹⁷⁾、神頭¹⁸⁾らは漸次この方法に検討改良を加え、抗結核剤の Screening Test や治療実験に利用価値のあることを報告してきたのである。

さて 1314Th を用いたモルモットの治療実験の成績を文献でみると Rist⁵⁾ら Steenken¹⁹⁾ら戸田³⁾ら、月居²⁰⁾らの成績があるが前眼部結核症による報告はほとんど認められない。Rist⁵⁾らはモルモットの実験的皮膚結核症に対して 1314Th 10mg の投与は SM 20mg 投与に匹敵し、1314Th 20mg の投与は INH 1.25mg の投与と同程度の治療成績を示し SM の約 2 倍、INH の約 1/8 ~ 1/16 程度の強さの効果を示すとのべ Steenken¹⁹⁾らは 1314Th 10mg/kg/day 投与は SM 20mg/kg/day よりやや劣り INH 2.5mg/kg/day より非常に劣っていると報告している。

著者はモルモットの実験では 1314Th と 2 次抗結核剤との併用による効果を検討する目的で 1314Th CS、及び KM を用い、単独療法、2 者併用療法、3 者併用療法と漸次薬剤を加えてその効果をみたのであるが、1314Th-CS-KM の 3 者併用療法が一番よい治療効果を示した。但し戸田³⁾らも認めている如く、1314Th の効果はマウスに於けるよりモルモットに於ける場合に於てやや現われにくい様に感ぜられた。

第 5 章 結 論

1314Th を用いて動物実験を行ない次の結論を得た。(1) 1314Th(末)の経口投与による LD₅₀ は 850mg/kg である。(2) 家兎及び人体を用い

て血中制菌力持続時間の検討を行なったが、家兎では 1314Th 20mg/kg 経口投与は INH 2mg/kg 経口投与よりやや劣り、人体に於ては 250mg 1 回の内服ではほんの僅かの制菌力を示したのに止まった。(3) マウスの生存日数によって 1314Th の治療効果をみたが 1314Th 10γ/g 毎日経口投与は KM20γ/g 週 3 回皮下注射よりややすぐれ、KM20γ/g 週 3 回皮下注射 + 1314Th 10γ/g 毎日経口投与は INH 1γ/g 毎日経口投与とほぼ等しい治療効果を示した。又、1314Th 10γ/g 毎日経口投与と KM 40γ/g 週 2 回皮下注射、VM 40γ/g 週 2 回皮下注射、PZA 60γ/g 毎日経口投与、sulfisoxazole 60γ/g 毎日経口投与、o-aminophenol methansulfonate 100γ/g 毎日経口投与、及び CS 10γ/g 毎日経口投与との 2 者併用療法を行ない、1314Th-VM, 1314Th-PZA, 1314Th-KM, に併用効果を認めた。(4) モルモット前眼部結核症に対する 1314Th, CS 及び KM の治療効果をみたが、これらの薬剤の単独療法よりは併用療法 殊に 1314Th-CS-KM の 3 者併用療法が一番すぐれた治療効果を示した。

(擱筆に臨み始終御指導を頂きました前川暢夫助教授、吉田敏郎博士、津久間俊次博士をはじめ当研究室の各位に深謝いたします。)

文 献

- 1) Litchfield, J.T. and Wilcxon, F.: J. Pharmacol., 96: 99, 1949
- 2) Rist, N., Grumbach, F., and Libermann, D.: Amer. Rev. Tuberc., 79: 1, 1959
- 3) 戸田忠雄, 他: 日本臨床結核, 18: 862, 1959
- 4) 志保田明: 京大結研紀要, 1: 140, 1952
- 5) Rist, N.: Bull. Internat. Union Tuberc., 28: 208, 1958
- 6) 北本治, 他: 最新医学, 15: 170, 1960
- 7) 三輪清三, 他: 結核, 36: 615, 1961
- 8) 三輪清三, 他: 結核, 37(特): 89, 1962
- 9) 小森宗次郎, 他: 日本胸部臨床, 21: 785, 1962
- 10) 浜田浩司: 京大結研紀要, 7(2)増刊号: 315, 1959
- 11) 田中健一: 京大結研紀要, 13: 13, 1964
- 12) 堂野前維摩郷, 他: 日本医事新報, 1897号: 9, 1960

- 13) 石田二郎, 他 : 最新医学, 16 : 188, 1961
- 14) Steenken, Wolinsky, and Heise, : Amer. Rev. Tuberc., 53 : 175, 1946
- 15) 前川暢夫 : 京大結研紀要, 1 : 29, 1953
- 16) 日根野吉彦 : 京大結研紀要, 4 : 130, 1955
- 17) 河崎弘 : 京大結研紀要, 5 : 129, 1957
- 18) 神頭勝太 : 胸部疾患, 1 : 250, 1957
- 19) Steenken, Tr., et al : Amer. Rev. Resp. Dis., 81 : 761, 1960.
- 20) 月居典夫, 他 : 呼吸器診療, 16 : 736, 1961